

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 599 068**

51 Int. Cl.:

A23L 33/17 (2006.01)

A23L 33/00 (2006.01)

A23L 5/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.02.2010 PCT/IL2010/000139**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.08.2010 WO10095130**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.02.2010 E 10711722 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.07.2016 EP 2398344**

54 Título: **Alimentos que contienen prolactina**

30 Prioridad:

17.02.2009 US 153080 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
31.01.2017

73 Titular/es:

**TECHNION RESEARCH & DEVELOPMENT
FOUNDATION LTD. (100.0%)
Senate House, Technion City
32000 Haifa, IL**

72 Inventor/es:

SHEHADEH, NAIM

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 599 068 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

Alimentos que contienen prolactina

Descripción

5 CAMPO DE LA INVENCION

[0001] Esta invención se refiere al uso de prolactina para la fabricación de una composición nutricional y su aplicación en suplementar la dieta de los mamíferos.

10 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0002] Uno de los principales efectos de la lactancia materna es el apoyo de la maduración intestinal. La leche materna también puede influenciar el crecimiento pequeño y la maduración intestinal funcional.

15 [0003] La prolactina se ha detectado en la leche de la vaca (Erb et al., 1977), cabra (McMurty y Malven, 1974), cerdo (Mulloy y Malven, 1979) y primates (Gala et al., 1975).

20 [0004] La prolactina es una hormona polipeptídica que ahora se sabe que tiene más de 300 actividades biológicas separadas, incluyendo la promoción de la lactancia en los mamíferos, y los roles en la reproducción y la homeostasis (Freeman et al., 2000).

25 [0005] La prolactina también puede ser un agente importante en el desarrollo de neuroendocrino, la función reproductiva e inmune y en ratones y ratas neonatales (Sinha y VanderLaan, 1982, Grove et al., 1991). Por otra parte, la prolactina en la leche humana puede tener un significado fisiológico para los seres humanos recién nacidos, incluyendo la mejora de la absorción de calcio a través de membranas epiteliales intestinales (Taketani y Mizuno, 1985, Amnattananakul et al., 2005).

30 [0006] Receptores de prolactina (formas largas y cortas) se identificaron en las células epiteliales del duodeno de rata, yeyuno, íleon y colon (Ouhtit et al., 1994). En los seres humanos, los enterocitos duodenales también expresan receptores de prolactina y receptores de prolactina se expresan en las células epiteliales de columna de vellosidades del duodeno de 12 a 14 semanas de gestación (Freemark et al., 1997). De hecho, la prolactina se ha encontrado para absorberse en el intestino de neonatos (Amnattananakul et al., 2005). Por lo tanto, la pequeña intestina en los seres humanos recién nacidos puede ser un órgano diana de prolactina.

35 [0007] Sin embargo, los neonatos humanos y animales neonatos recién nacidos frecuentemente son destetados de su alimento natural o se alimentan inmediatamente o poco después del nacimiento, y después se nutren principalmente de los sustitutos alimenticios producidos artificialmente.

40 [0008] Una fuente exógena alternativa putativa de la prolactina es la leche y huevos sin procesar. Sin embargo, la mayoría de los alimentos industriales o procesos de producción de alimentos implican condiciones de fabricación que son destructivas para la viabilidad de la prolactina. Además, las limitaciones de la cadena de suministro imponen requisitos de vida útil más larga de tal manera que el almacenamiento prolongado en condiciones adversas está activado. Desafortunadamente, tales requisitos a menudo resultan en la pérdida de eficacia de la actividad biológica de tal compuesto. De hecho, hemos mostrado que la concentración de prolactina es significativamente mayor en la leche humana fresca (329.5±268.5mU/L) en comparación con la leche humana pasteurizada (120,8 ±103 mU/L). Además, se detectaron sólo pequeñas cantidades de prolactina en la leche fresca comercial de vacuno y en las fórmulas infantiles (Vaxman y Shehadeh, 2008).

50 [0009] Componentes alimenticios destruidos durante el procesamiento de los alimentos pueden ser extraídos de las plantas, los organismos recombinantes o de otro tipo generados artificialmente, y se pueden producir a menor costo, están libres de bacterias y virus que se encuentran con frecuencia en las fuentes tradicionales, y estar mejor aceptados como más saludables y seguros por ambas autoridades reguladoras y el público en general. La tecnología para la producción de prolactina recombinante de ADN humano está disponible (Price et al., 1995).

55 [0010] A pesar de que una fuente de prolactina para niños recién nacidos es la leche de la madre, y a pesar de la evidencia que indica que esta fuente de prolactina puede tener una importancia fisiológica (Taketani y Mizuno, 1985), está no obstante en la actualidad no claro si la prolactina debe ser añadida a alimenticios para bebés. Por ejemplo, en ratas que maman sólo el 16% de la prolactina plasmática total se origina a partir de leche de la madre (Gonella et al, 1989;. Whitworth y Grosvenor, 1995). Además, la angiogénesis, el desarrollo de los vasos sanguíneos, se ha encontrado que es inhibida por los fragmentos proteolíticos de prolactina materna (Clapp C and De La Escalera GM, Prolactins: novel regulators of an- giogenesis, News Physiol Sci 12: 231-237, 1997).

60 [0011] Otro factor que complica la decisión de si, y también cómo, se agrega la prolactina para productos alimenticios es que hay muchas variantes de prolactina (<http://en.wikipedia.org/wiki/Prolactin>; Freeman, 200).

65 [0012] Debido a la gran variación, bioensayos e inmunoensayos que pueden dar resultados diferentes debido a

diferentes glicosilación, sulfatación de fosforilación, y extensiones de deamidación. Las moléculas de prolactina pueden resultar de corte alternativo de la transcripción primaria, la escisión proteolítica y otras modificaciones post-traslativas de la cadena de aminoácidos, y moléculas de prolactina pueden interactuar entre sí para producir prolactina dímera y polímera o con otras proteínas tales como inmunoglobulinas. Las funciones de estas variantes no son claras.

[0013] Por lo tanto, existe en la actualidad la incertidumbre en cuanto a qué forma, en su caso, la prolactina debe proporcionarse en alimentos para bebés, y la forma de evitar su degradación durante la preparación y almacenamiento.

[0014] La Publicación de la Solicitud Internacional N° WO 2003/044174 da a conocer secuencias promotoras de amiloide de suero A mamífero asociado a calostro (SAA). Los promotores se pueden utilizar en protocolos transgénicos para la expresión específica de tejido y construcciones de expresión, vectores y células huésped se dan a conocer. También las funciones reguladoras de estos promotores en producciones SAA asociadas a calostro explotadas para tratar estados de enfermedad asociados a o influenciados por producción SAA asociada a calostro.

[0015] Publicación de la Solicitud Internacional N° WO 2005/115473 describe medios para la protección y que incorpora compuestos bioactivos, insulina o derivado de los mismos que sirve como ejemplo, en las formulaciones de alimentos o piensos utilizados para mejorar el estado de salud y el comportamiento de crecimiento humano y organismos no humanos.

[0016] A pesar de las reservas con respecto a la adición de prolactina a comida, hemos reconocido la necesidad de la adición y hemos ideado una composición de alimentación nutricional que responden a la necesidad de una nutrición óptima a los seres humanos recién nacidos, capaz de suministrar biomateriales incluyendo prolactina de una manera que garantice su viabilidad al neonato, así como a lo largo de la cadena de suministro de su fabricación y una necesidad similar se reconoce en la complementación de la fórmula nutricional de niños recién nacidos a término y prematuros.

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

[0017] La presente invención proporciona el uso de prolactina para la fabricación de una composición nutricional para la mejora de pequeño crecimiento intestinal, maduración funcional del intestino delgado y/o la absorción de calcio a través de membranas epiteliales intestinales para mejorar la maduración del intestino, y/o estimular la mitosis en los linfocitos T. Dicha composición comprende prolactina idéntica o similar o análoga a la prolactina encontrada en una fuente de alimento natural microencapsulada en al menos una capa de protección. Liberación de dicha prolactina de la capa de protección en dicho sujeto es el resultado de un desencadenante ambiental.

[0018] De acuerdo con una realización, la fuente de alimento natural se selecciona del grupo que consiste de leche no procesada natural, huevos naturales no procesados, tejido animal, calostro y suero.

[0019] De acuerdo con otra realización, la prolactina comprende al menos una variante de la prolactina, siendo cada variante un análogo de una prolactina de origen natural o un derivado funcional de la misma.

[0020] Según otra forma de realización, el sujeto es un mamífero, preferiblemente un ser humano.

[0021] De acuerdo con otra realización, la composición nutricional está formulada específicamente para dicho sujeto. El sujeto puede ser un mamífero y al menos una variante en la composición puede ser homóloga a una variante del mamífero. Además, todas las variantes en la composición pueden ser homólogas a una variante en el mamífero. Alternativamente, al menos una variante en la composición es idéntica a una variante en el mamífero, preferiblemente en el que todas las variantes en la composición son idénticas a una variante en el mamífero.

[0022] De acuerdo con una realización preferida, el mamífero es un humano, preferiblemente en el que el humano se selecciona del grupo que consiste de un recién nacido, un lactante humano prematuro, un humano infante a término, un bebé, un niño, un adolescente, un adulto y un anciano.

[0023] De acuerdo con una realización adicional, la prolactina comprende una forma de 23 kDa.

[0024] De acuerdo con todavía otra realización, la prolactina comprende al menos una variante de la prolactina, siendo cada variante un análogo de una prolactina de origen natural o un derivado funcional del mismo, en el que al menos una variante se selecciona del grupo que consiste de prolactina no glicosilada, prolactina no fosforilada, monómero de prolactina y cualquiera de sus combinaciones.

[0025] Según otra forma de realización, la composición comprende al menos un complejo entre la prolactina y al menos la capa protectora. Preferentemente donde la composición comprende además uno o más polímeros solubles en agua seleccionada del grupo de polietilenglicol, copolímeros de polietilenglicol y polipropileno, carboximetilcelulosa, dextrano, alcohol de polivinilo, polivinilpirrolidona y poliprolina, para la formación de complejos

entre la prolactina y al menos una capa protectora a través de la unión covalente de los polímeros solubles en agua tanto a la prolactina y la capa protectora. Incluso más preferiblemente, la capa de protección está diseñada específicamente para degradar como respuesta al disparo del entorno, en la que dicho disparador ambiental es un cambio en al menos uno de temperatura, contenido de humedad, presión, pH, fuerza iónica, actividad enzimática, el tiempo pasado desde la proporció al sujeto con la composición nutricional, o cualquier combinación de los mismos, preferiblemente en el que la capa protectora se selecciona del grupo que consiste en polisacáridos, maltodextrina, leche en polvo, proteína de suero, lípidos, goma, celulosas, lactosa amorfa, o combinaciones de los mismos.

[0026] La presente invención proporciona además el uso de prolactina para la fabricación de un alimento nutricional complementado o piensos o bebidas para mejorar el crecimiento intestinal pequeño, maduración funcional del intestino delgado y/o absorción de calcio a través de membranas epiteliales intestinales que mejoran la maduración intestinal, y/o estimular la mitosis en los linfocitos T. Los alimentos nutricionales suplementados comprenden un alimento nutricional y una composición de la prolactina, la composición que comprende la prolactina idéntica o similar o análoga a prolactina encontrada en una fuente de alimento natural microencapsulado en al menos una capa de protección. La liberación de dicha prolactina desde al menos una capa de protección en la que dicho sujeto es el resultado de un desencadenante ambiental.

[0027] De acuerdo con una realización, la fabricación comprende la adición de la composición de prolactina a la comida nutricional o alimento o bebida. Alternativamente o preferiblemente la fabricación comprende:

- a. la preparación de una mezcla de prolactina protegida que comprende dicha prolactina con un primer material de protección adecuado, formando una primera mezcla;
- b. el procesamiento de la primera mezcla para formar una segunda mezcla seca que comprende prolactina en al menos una capa de protección, en el que dicha capa protectora está específicamente diseñada a degradarse como una respuesta a cambios en un desencadenante ambiental; y
- c. la adición de la segunda mezcla seca de dicho alimento nutricional o alimento nutritivo o bebida.

[0028] La preparación de una prolactina protegida puede comprender además:

- a. formar un núcleo redondo de la segunda mezcla;
- b. secar el núcleo;
- c. recoger el núcleo deshidratado;
- d. hacer una primera suspensión, que comprende el núcleo deshidratado en un segundo material de protección líquido.
- e. secar la primera suspensión en un secador de lecho fluidizado;
- f. recoger la suspensión fluidizada secada a lecho;
- g. llevar a cabo una segunda suspensión, que comprende la suspensión seca recopilada en un tercer material protector líquido; y
- h. secar la segunda suspensión en un secador de lecho fluidizado. Preferiblemente, la primera mezcla es líquida.

[0029] También preferiblemente, la primera suspensión comprende además al menos una maltodextrina, una vitamina, un antioxidante, un inhibidor de la proteasa, una hormona de crecimiento, una FCE (factor de crecimiento epidérmico), una insulina y la insulina como factor de crecimiento, una proteína de factor de crecimiento similar a la insulina de unión, una inmunoglobulina, un polipéptido rico en prolina, una lactoferrina, una proteasa, una lactoalbúmina, una interleuquina, una lisozima, un FCTA (factor de crecimiento transformante A), un FCDP (factor de crecimiento derivado de plaquetas) o una combinación de los mismos.

[0030] También preferiblemente, la segunda suspensión comprende además al menos una de una maltodextrina, una vitamina, un antioxidante, un inhibidor de la proteasa, una hormona de crecimiento, un FCE (factor de crecimiento epidérmico), una insulina y la insulina como factor de crecimiento, una proteína de factor de crecimiento similar a la insulina de unión, inmunoglobulinas, un polipéptido rico en prolina, una lactoferrina, una proteasa, una lactoalbúmina, una interleuquina, una lisozima, un FCTA (factor de crecimiento transformante a), un FCDP (plaquetas factor de crecimiento derivado) o una combinación de los mismos.

[0031] Según una realización preferida, la maltodextrina tiene un equivalente de dextrosa (DE) entre 2 y 64, preferiblemente en el que el equivalente de dextrosa es 18.

[0032] De acuerdo con otra realización, la prolactina se derivatiza ex vivo, preferiblemente en el que el la derivatización se realiza mediante al menos una de la digestión enzimática, métodos físicos, métodos químicos, o cualquier combinación de los mismos. Alternativamente o preferiblemente, el uso comprende además una etapa de aglomeración, preferiblemente donde el paso de aglomeración resulta de diámetro medio de partícula entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 5000 micrómetros.

[0033] De acuerdo con una realización preferida, preparando una prolactina protegida que comprende además:

- a. formar un núcleo redondo de la segunda mezcla;

- b. secar el núcleo;
- c. recoger el núcleo deshidratado;
- d. hacer una primera suspensión, que comprende el núcleo deshidratado en un segundo material de protección líquido;
- 5 e. secar la primera suspensión en un secador de lecho fluidizado;
- f. recoger la suspensión en un secador de lecho fluidizado;
- g. hacer una segunda suspensión, que comprende la suspensión seca recopilada en un tercer material protector líquido; y
- h. secar la segunda suspensión en un secador de lecho fluidizado.

10 **[0034]** El núcleo puede ser inerte, y/o formar el núcleo redondo y comprender además:

- a. la congelación flash de dicha mezcla líquida;
- 15 b. la recogida de las gotitas producidas;
- c. la liofilización de las gotitas recogidas; y
- d. la recogida de las gotas liofilizadas, con lo que se crea un núcleo redondo.

Según realizaciones preferidas, el núcleo puede comprender prolactina, o el tercer material de protección diseñado para proteger térmicamente la prolactina durante al menos 2 minutos a una temperatura de no menos de 95°C, o el segundo material protector diseñado para proteger dicha prolactina de enzimas proteolíticas y pH de no más de 4,75. También se describe, pero no forma parte de la presente invención, un método para la preparación de prolactina protegida en un alimento o pienso o bebida nutricional se proporciona, comprendiendo el método:

la preparación de una prolactina protegida que comprende:

- 25 la mezcla de dicha prolactina con un primer material de protección que forma una mezcla primera;
- el procesamiento de la primera mezcla para formar una segunda mezcla seca que comprende al menos una capa de protección, en la que dichas capas de protección están diseñadas específicamente para degradarse como respuesta a cambios en un desencadenante ambiental, y
- 30 la adición de la prolactina protegida a dicho alimento nutricional o alimento o bebida nutricional.

[0035] Un complementado alimenticio nutricional o alimento o bebida de un mamífero, puede comprender cualquiera de dichas composiciones, que se incorpora en dicho alimento o pienso o bebida nutricional, siendo por tanto la composición de un suplemento a dicho alimento humano o animal o bebida.

[0036] La bebida nutricional suplementada puede tener un nivel de prolactina entre 40 y 800 mU/L. Preferiblemente, la bebida nutricional complementada tiene un nivel de prolactina entre 100 y 600 mU/L.

[0037] En la comida nutricional complementada, la comida se puede seleccionar de fórmulas para bebés o recién nacidos o lactantes, leche en polvo, y el sustituto de la leche.

[0038] En la comida nutricional completada la fórmula puede ser un polvo seco y la composición de la prolactina puede estar seca.

[0039] Alternativamente, la fórmula para bebés es un líquido preparado a partir de un polvo seco.

[0040] Preferiblemente, la composición de la prolactina se distribuye de manera uniforme en el alimento.

[0041] La prolactina también se puede proporcionar para la fabricación de una composición nutricional para mejorar el crecimiento del intestino delgado, maduración funcional del intestino delgado y/o la absorción de calcio a través de membranas epiteliales intestinales mejorar la maduración del intestino, y/o estimular la mitosis en los linfocitos T, y/o la tasa de aumento de peso cada vez mayor, y/o la mejora de la FCR, y/o reducción de la incidencia de diarrea y/o otros trastornos gástricos y/o el aumento de la esperanza de vida de un sujeto, la composición que comprende prolactina idéntica o similar o análoga a prolactina que se encuentra en una fuente de alimento natural, y al menos una capa protectora, donde la liberación de dicha prolactina de la composición de dicho sujeto es el resultado de un evento ambiental.

[0042] La prolactina también se puede proporcionar para la fabricación de un alimento nutritivo complementado o piensos o bebidas para mejorar el crecimiento del intestino delgado, maduración funcional del intestino delgado y/o la absorción de calcio a través de membranas epiteliales intestinales, mejorando la maduración del intestino y/o estimular mitosis en los linfocitos T, y/o incrementar la tasa de aumento de peso, y/o la mejora de la FCR, y/o la reducción de la incidencia de diarrea y/o otros trastornos gástricos y/o el aumento de la esperanza de vida de un sujeto, comprendiendo los alimentos nutricionales suplementados alimento nutricional y una composición de la prolactina, comprendiendo la composición la prolactina idéntica o similar o análoga a la prolactina encontrada en una fuente de alimento natural, y al menos una capa de protección, donde la liberación de dicha prolactina de la composición en dicho sujeto es el resultado de un evento ambiental.

La fabricación de comida complementada nutricional o alimento o bebida pueden comprender la adición de dicha composición de prolactina a dicho alimento o pienso o bebida nutricional.

[0043] La fabricación puede comprender:

5 la preparación de una prolactina protegida que comprende:
mezclar dicha prolactina con un primer material de protección apropiado que forma una primera mezcla; el
10 procesamiento de la primera mezcla para formar una segunda mezcla seca que comprende prolactina en al menos
una capa protectora, en la que dicha capa de protección está diseñada específicamente para degradarse como una
respuesta a cambios en un desencadenante ambiental, y la adición de la segunda mezcla seca de dicho alimento
nutricional o un pienso o bebida alimenticios.

[0044] La preparación de una prolactina protegida puede comprender además:

15 formar un núcleo redondo de la segunda mezcla;
secar el núcleo;
recoger el núcleo deshidratado;
20 hacer una primera suspensión, que comprende el núcleo deshidratado en un segundo material de protección líquido;
el secado de la primera suspensión en un secador de lecho fluidizado;
la recogida de la suspensión de lecho seco fluidizado;
hacer una segunda suspensión, que comprende la suspensión seca recogida en un tercer material protector
líquido, y el secado de la segunda suspensión en un secador de lecho fluidizado.

[0045] Dicha primera mezcla puede ser líquido.

[0046] Dicha primera suspensión puede comprender además: una maltodextrina, una vitamina, un antioxidante, un
inhibidor de la proteasa, una hormona de crecimiento, un FCE (Factor de Crecimiento Epidérmico), un factor de
30 crecimiento de insulina y de tipo insulina, una insulina como proteína de unión de factor de crecimiento, una
inmunoglobulina, un polipéptido rico en prolina, una lactoferrina, una proteasa, una lactalbumina, una interleuquina,
una lisozima, un FCTA (Factor de crecimiento transformante A), un FCDP (Factor crecimiento derivado de
plaquetas) o combinación de los mismos.

[0047] En segundo lugar suspensión puede comprender además: una maltodextrina, una vitamina, un antioxidante,
un factor de crecimiento de insulina y de tipo insulina, una insulina como la proteína del factor de crecimiento de unión, un
35 inmunoglobulinas, un polipéptido rico en prolina, una lactoferrina, una proteasa, una talbumin lac-, una interleuquina,
una lisozima, un FCTA (Factor de crecimiento transformante a), un FCDP (factor de crecimiento derivado de las
plaquetas) o combinación de los mismos.

[0048] En la fabricación de comida nutricional complementada o pienso o bebida, maltodextrina puede tener un
equivalente de dextrosa (DE) entre 2 y 64, preferiblemente 18.

[0049] La prolactina se puede derivar ex vivo. Dicha derivatización se puede realizar por digestión enzimática,
45 métodos físicos, métodos químicos, o cualquier combinación de los mismos.

[0050] La fabricación de comida o alimento o bebida nutricional complementada puede comprender además una
etapa de la aglomeración.

[0051] Dicha etapa de aglomeración puede resultar en diámetro medio de partícula entre aproximadamente 0,1 y
aproximadamente 5000 micrómetros.

[0052] El núcleo puede ser inerte.

[0053] La formación del núcleo redondo puede comprender además:

la congelación flash de dicha mezcla líquida;
la recogida de las gotitas producidas;
la liofilización de las gotitas recogidas;
60 la recogida de las gotas liofilizadas, creando de este modo un núcleo redondo.

[0054] Dicho núcleo puede incluir prolactina.

[0055] Dicho tercer material de protección puede ser diseñado a proteger térmicamente prolactina durante no menos
de 2 minutos a una temperatura de no menos de 95°C.

[0056] Dicho segundo material de protección puede ser diseñado para proteger dicho compuesto bioactivo de enzimas proteolíticas y pH de no más de 4,75.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

5 [0057] La succión en los seres humanos y otros mamíferos tiene múltiples efectos beneficiosos sobre el bienestar de los bebés, incluyendo la nutrición óptima, la protección contra una amplia gama de enfermedades relacionadas con la infección y promover el crecimiento del intestino delgado y el desarrollo.

10 [0058] En ratas lactantes sólo el 16% de la prolactina plasmática total se origina a partir de leche de la madre (Gonella et al, 1989;. Whitworth y Grosvenor, 1995). Sin embargo, nos hemos dado cuenta de una importancia en que se complemente la prolactina auto-producida por los bebés con la prolactina de fuentes exógenas tales como fórmulas para la preparación de la alimentación con biberón.

15 [0059] En consecuencia, se da a conocer una composición nutricional para un sujeto, comprendiendo la composición la prolactina microencapsulada.

[0060] Encapsulaciones que se consideran adecuadas para tales composiciones nutricionales se han descrito en su totalidad en el documento WO05/115473, cuya descripción en su totalidad se cita con el propósito de indicar los antecedentes de las formas de realización de la invención y que ilustran el estado de la técnica.

20 [0061] El término "prolactinas" incluye fragmentos y/o derivados de prolactina y/o compuestos que son similares o análogas a la prolactina que se encuentra en una fuentes de alimentos naturales tales como la leche natural sin procesar, huevos sin procesar, el material de planta, tejido animal, tecnología de ADN recombinante, o el resultado de la PCR, o el resultado de la síntesis química.

[0062] Los términos "análogo" o "análogo" o "análogo" se refieren indistintamente a una estructura que es similar en función a uno en otro tipo de organismo, pero es de origen evolutivo diferente.

30 [0063] Según un aspecto, la prolactina, que es análogo a la leche y los huevos de prolactina o variantes de prolactina, se utiliza como suplementos para alimentos de humanos lactantes y pienso infantil animal.

[0064] En algunas realizaciones, el mamífero es un infante humano prematuro, infante humano a término, un bebé humano, niño humano, adolescente humano, adulto humano o humano anciano.

35 [0065] El mamífero también puede ser un animal crecido o maduro.

[0066] La prolactina puede complementarse con alimentos, piensos o bebidas en los niveles medidos en la leche materna humana, es decir, entre unos 40 y 800 mU/L; como alternativa, la prolactina puede complementarse para promover la salud o el crecimiento en los niños. Los niveles de prolactina en las últimas preparaciones para lactantes humanos son preferiblemente a niveles de 100 a 600 mU/L.

40 [0067] Preferiblemente, las variantes de prolactina en la composición nutricional son similares o idénticas, a las variantes presentes en el calostro natural sin procesar, una leche entera o huevo. Lo más preferiblemente, se seleccionan las variantes que son específicamente adecuadas para los mamíferos específicos. En particular, preferiblemente las variantes de prolactina en una composición nutricional para alimentar un cierto animal son similares o idénticos a los de la leche o el calostro del mismo animal.

45 [0068] Opcionalmente, todas las variantes presentes en el colostro, leche entera o de huevo están incluidos en la composición nutricional. Alternativamente, las variantes de prolactina en las composiciones nutricionales son esencialmente no glicosilada y/o no fosforilada y/o no dimerizada o polimerizada.

50 [0069] La relación entre las variantes presentes en el calostro natural no procesado, leche entera o de huevo puede ser aproximadamente la relación de las mismas variantes incluidas en la composición nutricional. En una realización alternativa, la proporción de la prolactina no fosforilada y no glicosilada es mayor que la proporción de estas variantes en el calostro no procesado, leche entera o de huevo.

55 [0070] La liberación de la prolactina en la composición nutricional o directamente al sujeto que recibe las composiciones nutricionales puede ser tras la exposición a un desencadenante ambiental.

60 [0071] El término "activación" se refiere a un cambio en las condiciones del entorno suficientes para iniciar la degradación de los materiales de encapsulación de las capas encapsulantes utilizadas en la composición y los métodos, conduciendo el cambio a la liberación de compuestos bioactivos, viables encapsulados en los mismos. La condición ambiental de referencia puede ser el tiempo o la temperatura, la humedad o contenido, o presión, o pH, o la fuerza iónica, o actividad enzimática, o una combinación de los mismos.

65

[0072] El cambio de condición del entorno se puede seleccionar ya sea como un cambio de más del $\pm 2,5\%$ en la condición ambiental de referencia, o más del $\pm 5\%$, $\pm 10\%$, $\pm 15\%$, $\pm 20\%$, $\pm 25\%$, $\pm 30\%$, $\pm 35\%$, $\pm 40\%$, $\pm 45\%$ o $\pm 50\%$.

[0073] En una realización, la capa protectora circundante o la incorporación de la prolactina es específicamente diseñada con el fin de degradar, o en otra realización, someterse a la liberación controlada, como respuesta a la exposición al cambio en el estado del entorno, que está en otra forma de realización temporal, o en otra forma de realización de temperatura, o en otra forma de realización de contenido de humedad, o en otra presión de realización, o en otra forma de realización de pH, o en otra forma de realización de fuerza iónica, o en otra actividad enzimática de realización, o en otra forma de realización de una combinación de los mismos.

[0074] Por lo tanto, un núcleo en el que la prolactina se integra, puede estar recubierto de un material protector para proteger el núcleo activo de la digestión en un sistema digestivo de un sujeto, y suelta el núcleo que en otra forma de realización, libera el activo compuesto, sólo como respuesta a un aumento en el pH.

[0075] El núcleo activo, que puede ser encapsulado en un material de encapsulación que permite la liberación del núcleo basado en aumento en el pH, se encapsula adicionalmente con otro material de encapsulación, diseñado para proteger el núcleo del aumento de la temperatura como se describe en el presente documento.

[0076] El experto en la técnica reconocerá que el orden de los desencadenantes ambientales que libera la prolactina no es rígido y en función de las condiciones ambientales de la fabricación, las condiciones ambientales de la integración en alimentos o piensos, condiciones ambientales de almacenamiento después de la integración a los alimentos o piensos, localización de entrega deseada dentro del sistema gastrointestinal, el calendario y la actividad fisiológica deseada, las capas de encapsulado podrían atender a esas exigencias sin apartarse del alcance de la invención tal como se describe en el presente documento.

[0077] Cualquier factor, que puede afectar el atrapamiento de la prolactina sujeto en una matriz biodegradable, y con ello afectar su carga inicial, o posterior liberación, o una combinación de los mismos, pueden utilizarse de acuerdo con métodos y composiciones cerradas divulgados. Tales factores pueden comprender, entre otras cosas, la concentración de disolvente inicial, su tamaño molecular y la polaridad, la temperatura y la presión bajo la cual se elimina el disolvente, el número de peso molecular (MWn) promedio de la matriz biodegradable, su índice de polidispersidad, el tamaño y la polaridad de la prolactina, cuando la matriz biodegradable es un polímero, la relación de monómeros y la distribución a lo largo de la cadena del copolímero, o una combinación de los mismos.

[0078] Además, la relación D/L dentro de cada monómero de un polímero biodegradable afectará las velocidades de liberación. La relación de término D/L puede referirse a la relación de moléculas de monómero que afectan a la dirección (D-derecho, L-izquierda), en la que se hace girar una lente polarizada cruzada cuando se observa un único monómero ópticamente activo, como ácido láctico. Como la mayoría de los mamíferos tienen enzimas D-específicas, la relación afectará a la tasa de digestión del biopolímero biodegradable, afectando su peso molecular y por consiguiente, su viscosidad, lo que afecta la velocidad de liberación de cualquier prolactina atrapada.

[0079] Complejos entre la prolactina y la capa protectora se pueden formar a través de la unión covalente de polímeros solubles en agua tales como polietilenglicol, copolímeros de glicol de polietileno y glicol polipropileno, carboximetilcelulosa, dextrano, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona o poliprolina. La complejación puede afectar a la solubilidad del compuesto en solución acuosa, eliminar la agregación, potenciar la estabilidad física y/o química del compuesto, cambiar la inmunogenicidad o la reactividad del compuesto, promover la maduración intestinal, el crecimiento del intestino delgado y/o maduración funcional, mejorar la absorción intestinal de calcio a través de las membranas epiteliales, estimular la mitosis en los linfocitos T o combinación de los mismos.

[0080] Las composiciones también pueden servir para aumentar la tasa de ganancia de peso, mejorar la FCR (índice de conversión de alimentos) de los animales recién nacidos, reducir la tasa de mortalidad de los animales recién nacidos, prevenir la diarrea u otros trastornos gástricos o aumentar la esperanza de vida de los animales nacidos después del nacimiento.

[0081] También se describe un método para preparar una prolactina encapsulada en un alimento o pienso alimenticio, mezclando la prolactina con un material aislante encapsulante apropiado en forma líquida para formar una mezcla que comprende, a continuación, el procesamiento de la mezcla formada para formar una mezcla seca funcionalmente protegida de capas múltiples, en la que la capa de protección está diseñada específicamente para degradar como una respuesta a cambios en un desencadenante ambiental, y después añadir la mezcla seca a la comida o alimentación nutricional, preparando de este modo una encapsulación de capas múltiples de la prolactina en una alimentación nutricional.

[0082] También se describe un método para la encapsulación de una prolactina, que comprende; (i) mezclar una prolactina con un material de encapsulado que forma la pared, y (ii) enfriamiento rápido del material formador de pared que resulta en encapsulación de la prolactina.

[0083] El proceso antes mencionado puede producir un núcleo de una matriz que atrapa la prolactina, de forma

alternativa, el núcleo no contiene inicialmente una prolactina y es, por lo tanto, inerte. El núcleo producido puede ser sustancialmente redondo, para mejorar la adición de capas de encapsulación adicionales.

5 **[0084]** La formación del núcleo redondo puede comprender además congelación flash de dicha mezcla líquida, la recogida de las gotas producidas, la liofilización de las gotitas recogidas y recogida de las gotas liofilizadas, creando de este modo un núcleo redondo, en el que dicho núcleo puede comprender una prolactina.

10 **[0085]** La encapsulación puede referirse al proceso en el que uno o más de prolactina, la variante de prolactina y/o un análogo de la prolactina se recubren con, o se atrapan dentro de otro de grado alimenticio o grado de la alimentación o material de grado farmacéutico o matriz. La encapsulación de compuestos sensibles al calor, tales como por ejemplo componentes nutraceuticos, enzimas o proteínas bioactivas, en matrices que son digeribles y comestibles, es generalmente difícil por una serie de razones. Procedimientos de encapsulación convencionales, que exponen material de la matriz y encapsulantes a altas temperaturas y humedad, tales como los encontrados en la granulación y extrusión, causa la destrucción térmica o pérdida de viabilidad biológica del encapsulante. Por lo
15 tanto, ya sea gran carga inicial de encapsulante, una preposición muy cara y potencialmente peligrosa, sería necesaria, o el encapsulante no se presentaría el proceso de encapsulación en absoluto. Si el encapsulante se puede encapsular en una matriz bajo temperaturas suficientemente bajas, el producto resultante es un sólido que se caracteriza como un sólido que es capaz de procesarse posteriormente para producir un polvo fluido, susceptible de
20 procesamiento adicional.

[0086] La temperatura a la que se consumieron las partículas, o la temperatura de la alimentación, en general, puede estar por debajo de 50 grados centígrados, lo que es muy por debajo de la temperatura de transición vítrea, Tg. El diseño cuidadoso de la matriz vítrea puede liberar la prolactina en condiciones deseadas de temperatura, la humedad, el pH o el entorno enzimático.

25 **[0087]** La matriz encapsulada se podría utilizar en forma de gránulos densos para una variedad de aplicaciones de procesamiento, cuando se desea una liberación controlada del encapsulante sensible al calor. La dureza física de los productos y su estabilidad mecánica son ventajosos para muchas aplicaciones de procesamiento.

30 **[0088]** El encapsulante puede ser de calidad alimentaria, o de calidad de pienso. El encapsulante puede ser un polisacárido, o una maltodextrina, o leche en polvo, o una proteína de suero de leche, o un lípido, o una goma, o una celulosa, o una lactosa amorfa, o una combinación de los mismos.

35 **[0089]** La mezcla de la prolactina con un material aislante encapsulante apropiado que forma una mezcla puede comprender además la mezcla de dicho compuesto con un encapsulante.

[0090] También se describe un método de fabricación de una prolactina protegida para retener la actividad biológica de la proteína.

40 **[0091]** La invención puede ser utilizada para preservar la actividad biológica de una prolactina de temperatura negativa, o de presión adversa, humedad adversa, pH adverso, la concentración osmótica adversa, la concentración iónica adversa, la degradación enzimática adversa, la degradación química, presencia de metales, tensioactivos y/o quelantes, radiación (incluyendo UV, IR, o luz visible o combinación de los mismos), la degradación microbiana o de los cambios físicos, incluyendo las transiciones de primera o segunda fase de orden.

45 **[0092]** El término "transición de fase de primer orden" puede referirse a una discontinuidad en el primer derivado de energía libre Gibbs con la temperatura a una concentración constante [$(\partial G/\partial T)_c$]. Alternativamente, el término "transición de fase de primer orden" se refiere a la cristalización, o a la condensación, o a la evaporación, o para la fusión.

50 **[0093]** El término "transición de fase de segundo orden" puede referirse a una discontinuidad en el segundo derivado de energía libre de Gibbs con la temperatura a una concentración constante [es decir, $(\partial^2 G/\partial T^2)_c = (\partial H/\partial T)_c$]. Por otra parte, el término "segunda transición de fase 5 orden" se refiere a la transición de vidrio/caucho, o a la aparición de movilidad de rotación (β -transición), o de aparición de la movilidad de vibración, o para antifusión.

55 **[0094]** Un análogo a la prolactina protegida puede estar presente en una leche de mamíferos natural o huevos naturales, pero su concentración es significativamente menor, no viable, no disponible o no existe en los alimentos infantiles para humanos o piensos infantiles para animales procesados comercialmente.

60 **[0095]** "Mamífero" para los propósitos de tratamiento se refiere a cualquier animal clasificado como un mamífero, incluyendo los humanos, los animales domésticos y de granja, zoo, deportivos o animales de compañía, como perros, caballos, gatos, hamsters, ratas, ratones, vacas, cerdos, cabras, ovejas, etc. . Preferiblemente, el mamífero es humano.

65 **[0096]** La concentración tal como se utiliza aquí se refiere a concentración molar y sus fracciones, o el porcentaje en relación con el existente en el calostro, la leche entera y los huevos.

[0097] El término "significativamente inferior" se refiere a la cantidad del análogo de compuesto a la prolactina en la leche procesada comercialmente entre aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50 por ciento de la presente en el calostro no procesado natural, leche entera o de huevo.

5 **[0098]** El material de encapsulación puede ser de calidad alimentaria o el material de encapsulación puede ser de calidad de pienso, o el material de encapsulación puede ser de calidad farmacéutica, o una combinación de las anteriores.

10 **[0099]** También se describe un método para preparar al menos una de prolactina encapsulada en una formulación nutricional de alimentos o en una formulación nutricional de alimentación, que comprende mezclar la prolactina con un material de encapsulación adecuado que forma una mezcla, a continuación, el procesamiento de la mezcla formada para formar una mezcla seca protegida funcionalmente de varias capas, en el que cada una de las capas de protección está específicamente diseñada a degradarse como una respuesta a cambios en un desencadenante ambiental y después añadir la mezcla seca a la formulación nutricional de alimentos o la formulación nutricional de alimentación, en la que el procesado de la mezcla comprende además la formación de un núcleo redondo o no redondo, seguido de secado del núcleo en un secador de lecho fluidizado, recogiendo el núcleo deshidratado, la suspensión de la mezcla deshidratada en un segundo líquido de encapsulación funcional, el secado de la suspensión en un lecho fluidizado secador y la recogida de la suspensión deshidratada seguido de resuspensión de la suspensión obtenida en la etapa anterior en un tercer fluido encapsulante funcional, a continuación, el secado de la resuspensión en un lecho fluidizado y, finalmente, la adición de la mezcla seca obtenida a la formulación nutricional de alimentos o formulación nutricional de piensos, preparando de este modo una encapsulación de capas múltiples de una prolactina en una formulación nutricional de alimentos o una formulación del alimento nutricional. La mezcla inicial puede ser líquida.

25 **[0100]** Una segunda capa de protección, o una tercera capa de protección, o una cuarta capa de protección, o una quinta capa de protección, o una sexta capa de protección o una séptima capa de protección o una octava capa de protección, o una novena capa de protección, o una capa décima de protección pueden comprender además un material de encapsulación funcional tal como una maltodextrina, o una vitamina, o un antioxidante o un inhibidor de la proteasa, o una hormona de crecimiento, o un FCE (Factor de crecimiento epidérmico), o una insulina y factor de crecimiento similar a la insulina, o la proteína de unión de un factor de crecimiento similar a la insulina, o una inmunoglobulina, o un polipéptido rico en prolina, o una lactoferrina, o una proteasa, o una lactoalbúmina, o una interleuquina, o una lisozima, un FCTA (factor de crecimiento transformante a), o un FCDP (Factor de crecimiento derivado de plaquetas) o combinación de los mismos.

35 **[0101]** El segundo, o tercer material funcional encapsulado o cuarto material de encapsulación funcional, o quinto material de encapsulación funcional, o sexto material funcional de encapsulación, o séptimo material de encapsulación funcional, o octavo material funcional de encapsulación, o noveno material de encapsulación funcional, o décimo material de encapsulación funcional pueden ser maltodextrina, que, puede tener un valor DE de entre aproximadamente 2 a aproximadamente 64. La maltodextrina puede tener un DE de entre aproximadamente 2 y aproximadamente 5, o entre aproximadamente 5 y aproximadamente 10, o entre aproximadamente 10 y aproximadamente 15, o entre aproximadamente 15 y aproximadamente 20, o entre aproximadamente 20 y aproximadamente 25, o entre aproximadamente 25 y aproximadamente 30, o entre aproximadamente 30 y aproximadamente 35, o entre aproximadamente 35 y aproximadamente 40, o entre aproximadamente 40 y aproximadamente 45 y aproximadamente 50, o entre aproximadamente 50 y aproximadamente 55, o entre aproximadamente 55 y aproximadamente 60, o entre aproximadamente 60 y aproximadamente 64. La maltodextrina puede tener un DE de 18. Alternativamente, la maltodextrina tiene un DE de 6.

50 **[0102]** Una capa de protección permite el mantenimiento de las propiedades bioactivas de la prolactina, mientras que en un "estado latente", que puede referirse al período en que la prolactina protegida se deshidrata, tales como las presentes en las fórmulas infantiles en polvo, productos sustitutos de la leche, y mezclas semi-sólidos/sólidos y pellets. El término "estado latente" de la prolactina también puede referirse a la preservación de las estructuras nativas terciaria y cuaternaria de la prolactina en un estado anhidro.

55 **[0103]** La capa protectora proporciona protección a la prolactina encapsulada, de modo que la prolactina mantiene sus propiedades bioactivas en condiciones hostiles, tales como altas temperaturas que normalmente llevan a la desnaturalización de las proteínas, o altas presiones, humedad o presiones adversas osmóticas, o pH alto o bajo, o una fuerte degradación enzimática, o alta concentración de disolvente y similares, o una combinación de al menos dos de los anteriores.

60 **[0104]** Sobre la base de un evento desencadenante, una capa exterior de protección se puede disolver o capas de protección exteriores se disuelven, y la prolactina "inactiva" se dará a conocer y se vuelve fisiológicamente activa.

65 **[0105]** Preferiblemente, la liberación de prolactina es esencialmente mientras que las microcápsulas están en contacto con diferentes partes del tracto gastrointestinal. La liberación puede ser principalmente en el intestino delgado.

- 5 [0106] La prolactina encapsulada será protegida de las condiciones encontradas durante la granulación comercial y procesos de extrusión, incluyendo pero no limitado a la granulación de extrusión en frío y en caliente o extrusión de granulación, ya sea a temperaturas y presiones normales o en condiciones muy diferentes de temperatura y presión normales.
- 10 [0107] La prolactina encapsulada será protegida de condiciones encontradas durante los procesos de reducción de tamaño comercial, incluyendo el procesamiento por molinos coloidales, tanto rotor estator del tipo frusto cónico, así como de tipo corona y diente, molinos de bolas, molinos de impacto, molinos de atrapamiento jet, molinos de homogeneización, sonicación, mezcladores de alta velocidad o dispositivos de emulsión de membrana.
- 15 [0108] La prolactina encapsulada será protegida de las condiciones encontradas durante los procesos de horneado comercial, o en otros procesos de realización de congelación.
- 20 [0109] El material de encapsulación funcional externa en la capa de encapsulación exterior puede diseñarse para proteger térmicamente la prolactina durante no menos de 2 minutos a una temperatura de no menos de 95°C. El material de encapsulación funcional externo en la capa de encapsulado externo también puede estar diseñado para proteger térmicamente la prolactina durante no menos de 1 minuto a una temperatura de no menos de 120°C. El material de encapsulación funcional externa también puede estar diseñado para proteger la prolactina de enzimas fotolíticas y pH de no más de 4,75. El material de encapsulación funcional externa también puede estar diseñado para proteger la prolactina de cualquier combinación de factores como se describió anteriormente.
- 25 [0110] También se describe un método para complementar un alimento nutricional o alimento o bebida de un mamífero, que comprende la incorporación de una composición nutricional para un sujeto, que comprende una prolactina análoga a la que se encuentra en una fuente de alimento natural, y una capa protectora, donde la liberación de la prolactina en el sujeto está en otra realización, el resultado de un evento ambiental, en dicho alimento nutricional o alimento o bebida, por lo tanto, que complemente esta alimento o pienso o bebida.
- 30 [0111] Por lo tanto, una formulación recién nacida puede proporcionarse, que comprenda una prolactina que se encapsule o incruste en un ingrediente comestible de múltiples capas, que se proteja y preserve la prolactina haciendo que sea viable en el recién nacido.
- 35 [0112] La formulación recién nacida puede ser una fórmula infantil o un sustituto de la leche o piensos semisólidos o alimento sólido para el consumo de mamífero recién nacidos.
- 40 [0113] El término "sustituto de leche" puede referirse a cualquier sustituto de leche de los recién nacidos de mamífero en el que los mamíferos son de las familias human, bovina, equina y de cerdos para ejemplos de ternera, cordero, cerdo, vaca, oveja, cabra, yaez, gatos, perros y caballos. En una realización, el sustituto de leche se refiere a cualquier sustituto de leche, adecuado para los recién nacidos de mamífero, en el que los mamíferos son de las familias felinas y caninas.
- 45 [0114] El material plastificado puede consistir en polisacáridos de hidratos de carbono, tales como pentosanós, o un almidón modificado físicamente o químicamente o ciclodextrina o mezclas de los mismos.
- 50 [0115] El material plastificado puede ser un polímero tal como polivinilpirrolidona (PVP, Povidona) u otros polímeros no hidrófobos tales como N-vinilpirrolidona (NVP) y copolímeros de acetato de poli(vinilo), quitosano alcohol de (polivinilo) o mezclas de los mismos. El material plastificado puede consistir en ésteres de celulosa, éteres de celulosa, y glicol de polietileno. El material plastificado puede ser un hidrocoloide, tales como xantano, carragenano, alginato, goma árabe, goma arábiga, goma de tragacanto, goma de conjac o mezclas de los mismos.
- 55 [0116] El material plastificado puede consistir en gluteninas o gliadinas, tales como gluten de trigo vital o gluten aislado, o zeína, o vegetal o proteínas tales como proteína de soja o leche, o mezclas de los mismos.
- [0117] Los almidones que se pueden utilizar pueden ser almidones modificados física o químicamente, con relaciones de amilosa/amilopectina de entre aproximadamente 1 a aproximadamente 0,001, derivados de maíz, trigo, arroz o patata, tapioca, yuka, raíz de flecha o una combinación de los mismos .
- 60 [0118] Las fuentes de almidón que se pueden usar también incluyen harinas a base de cereales tales como maíz, trigo, trigo duro, arroz, cebada, avena, centeno o mezclas de los mismos.
- [0119] El material de la pared utilizado puede ser poli(DL-lactida co-glicólido).
- 65 [0120] El material de encapsulación de grado alimenticio o piensos, que se utiliza en la formulación de recién nacidos puede comprender polisacáridos, maltodextrina, leche en polvo, proteína de suero, lípidos, goma, de celulosa o combinaciones de los mismos.
- [0121] La formulación de recién nacidos puede comprender aproximadamente partículas de tamaño uniforme de

prolactina extraídas de la planta encapsulada, donde las partículas tienen un diámetro de entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 5.000 micrómetros. Preferiblemente, D3,2 es el área de partícula promedio de diámetro.

5 **[0122]** La formulación se puede utilizar para los mamíferos post-destete. Mamíferos post-destete, como se usan aquí, se refieren a la edad a la que los mamíferos intensamente cultivados suelen ser destetados de la leche de la madre. Por ejemplo, los corderos intensivamente cultivados son normalmente destetados entre los 25 - 35 días a partir del nacimiento. Lechones intensamente cultivados suelen ser destetados entre los 18 - 30 días desde el nacimiento; terneros intensamente cultivados normalmente son destetados entre los 40 - 70 días a partir del nacimiento.

10 **[0123]** En todos estos animales recién nacidos, la cantidad prevista del sustituto de leche que contiene la prolactina puede reducirse gradualmente, y la cantidad de la prolactina en la mezcla, gránulos u otro alimento semisólido o sólido puede aumentarse de forma gradual.

15 **[0124]** La integración de la prolactina en la mezcla/gránulos/bebida es ventajosa durante el tiempo de 1-9 meses después del nacimiento o después del destete. Como alternativa, la prolactina es beneficiosa tanto para 1-2 meses, 2-3 meses, 3-4 meses, 4-5 meses, 5-6 meses, 6-7 meses, 7-8 meses, o 8-9 meses post-parto o post-destete.

20 **[0125]** La formulación del alimento sólido o semi-sólido puede estar en forma de un puré de patatas, o pastillas, o gránulos, o aglomeración, o extrusión o combinaciones de los mismos.

[0126] La prolactina incrustada o encapsulada o sustancialmente mantiene o puede sustancialmente mantener su función biológica durante la digestión de los alimentos o piensos.

25 **[0127]** La prolactina incrustada o encapsulada puede ser liberada al entrar en contacto con un líquido.

[0128] La formulación de alimento sólido o semi-sólido de animal recién nacido puede comprender partículas de tamaño uniforme de una prolactina encapsulada, en las que las partículas tienen un tamaño promedio de entre alrededor de 10 a alrededor de 4.000 micrómetros.

30 **[0129]** Los productos que contienen prolactina protegida son consumidos por una variedad de sujetos tales como los lactantes prematuros, niños prematuros después del alta, recién nacidos a término, bebés, niños pequeños, niños, adolescentes, adultos, humanos ancianos, o lactantes o los adultos de los animales no humanos, tales como bovinos, porcinos, caprinos, felinos, caninos, equinos o especies infantiles o adultos de cualquier otro animal no humano.

35 **[0130]** Las fórmulas y los sustitutos de leche para lactantes prematuros, especialmente recién nacidos prematuros nacidos entre las semanas 24 - 36, en donde dichas fórmulas o los sustitutos de leche contienen una prolactina protegida o no protegida, pueden ser complementados con una proteína bioactiva protegida o no protegida antes de su consumo, se utilizan para ayudar a acelerar el desarrollo o maduración del tracto gastrointestinal del recién nacido prematuro o prevenir o reducir la incidencia de enfermedades frecuentemente mortales asociadas al parto prematuro, tales como NEC (enterocolitis necrotizante).

40 **[0131]** Los alimentos y las bebidas de los recién nacidos prematuros o a término pueden incorporar una prolactina protegida o prolactina no protegida, cuando se proporciona inmediatamente o poco después del nacimiento, asistir en la eliminación o reducción de la aparición de enfermedades autoinmunes tales como DMID, celiaca, enfermedad inflamatoria intestinal, y la enfermedad de Crohn etc.

45 **[0132]** Una prolactina protegida puede mezclarse previamente y se empaqueta en un paquete separado en la alimentación humana o animal o bebida, o antes de su consumo por un sujeto, se abre el paquete que contiene la prolactina protegida, y la prolactina protegida se incorpora al alimento humano o animal o bebida de un sujeto, creando así un alimento suplementado bioactivo o piensos o bebidas de un sujeto.

50 **[0133]** Un método para encapsular e incrustar de la prolactina en la formulación recién nacida de mamífero también se da a conocer, que comprende las etapas de, (i) mezclar la prolactina con un grado alimenticio comestible o grado de la alimentación o material de encapsulación de calidad farmacéutica, formando una mezcla líquida; (ii) secado de la mezcla líquida; (iii) el recubrimiento de la mezcla seca con una capa de material de encapsulación de grado adicional de alimentos o piensos o de calidad farmacéutica; y (iv) añadir la mezcla seca a la formulación de recién nacido.

55 **[0134]** La formulación de alimentos de recién nacido de mamífero puede ser la fórmula infantil o sustituto de leche/sustituto u otra bebida. Tal formulación puede ser una forma de polvo, una solución, una suspensión, una emulsión, una pomada, una crema, tanto en forma líquida, semi-sólida o sólida.

60 **[0135]** Una formulación para mamíferos post-destete que es un sólido o una formulación semisólida también se da a conocer, que comprende una prolactina y encapsulado incrustado preparado mediante el siguiente procedimiento: (i)

mezclar el compuesto con un material encapsulante de grado sw calificación alimenticia o pienso o de grado farmacéutica o a fin de formar una mezcla líquida; (ii) secado de la mezcla de líquido a fin de formar una mezcla seca; (iii) el recubrimiento de la mezcla seca con un grado adicional de alimentos o de calidad alimentaria o farmacéutica que encapsule la capa de material; y (iv) añadir la mezcla seca a la formulación del alimento sólido o semi-sólido de mamífero. La formulación sólida o semi-sólida puede estar en una forma de pellets o puré/mezcla.

[0136] Además, la etapa de mezclar la prolactina y la pared que forma material de grado alimenticio o grado de la alimentación o de calidad farmacéutica, puede implicar la adición de líquido, tal como, pero no limitado a: agua, solución salina, alcohol, melaza, disolventes orgánicos o disolvente material de encapsulación de grado alimenticio similar o de calidad alimentaria o farmacéutica.

[0137] La relación entre el material de grado alimenticio o grado de la alimentación o de calidad farmacéutica y el disolvente de materiales de encapsulado de calidad alimentaria o grado de alimentación o de calidad farmacéutica puede estar entre aproximadamente 1: 1 a aproximadamente 1: 1000, o entre 1: 3 y 1: 100.

[0138] La mezcla seca puede someterse a una reducción de tamaño.

[0139] La prolactina encapsulado puede estar además encapsulado por una capa de protección adicional, que puede estar formado del mismo material de encapsulación de grado alimenticio o grado de piensos o de grado farmacéutico o un material de encapsulado diferente de grado de alimento o grado de la pienso o de grado farmacéutico.

[0140] El papel de la capa protectora es proteger el núcleo de las condiciones ambientales adversas tales como la temperatura, el vapor y/o presión, u otros desencadenantes ambientales. Alternativa o adicionalmente, el papel de la capa de protección es proteger el núcleo de la degradación.

[0141] Cada combinación de un número diferente y el tipo de capas de encapsulación resulta en un producto único adecuado para la protección de la prolactina durante condiciones de fabricación de encapsulación, y/o durante la integración de la prolactina en la comida o productos de alimentación o bebidas y/o durante el almacenamiento, y para la maduración del sistema gastrointestinal, y/o para las propiedades y características del sujeto a la edad específica en que está siendo alimentado. De acuerdo con ello, un encapsulado de múltiples capas para un cochinitillo de 2 días de edad puede diferir sustancialmente de encapsulación de múltiples capas requerida para lechones de 25 días de edad.

[0142] La mezcla seca puede mezclarse adicionalmente con dicho material de encapsulado de grado de alimento o grado de pienso de grado farmacéutico a fin de formar otra capa de material de encapsulado de grado alimenticio o grado de pienso o de calidad farmacéutica que envuelve a la prolactina.

[0143] El material de encapsulación de grado alimenticio o grado de la alimentación o de grado farmacéutico puede ser un polisacárido, leche en polvo, proteína de suero, lípidos, goma arábiga celulosa microcristalina, sus análogos o combinaciones de los mismos. El material de encapsulación de grado de alimento, grado o pienso o de grado farmacéutico puede ser un sólido a temperaturas de hasta 85°C.

[0144] La etapa de secado de material de encapsulación de calidad alimentaria o calidad de pienso o calidad farmacéutica y prolactina se puede hacer usando los métodos incluyendo, pero no limitado a: secado por congelación, secado al vacío, secado por pulverización, deshidratación osmótica, deshidratación fluidizada a lecho, deshidratación de evaporación de disolvente, deshidratación asistida por sonicación, deshidratación asistida por microondas, deshidratación RF-asistida, ya sea solo o combinaciones comercialmente aceptables de los mismos.

[0145] La mezcla líquida se puede liofilizar después de incorporar una prolactina y un ingrediente material de encapsulación de grado alimenticio, grado de pienso o de grado farmacéutico.

[0146] La liofilización produce partículas que contienen una prolactina protegida y un material de encapsulación de grado alimenticio o grado de pienso o de calidad farmacéutica en una matriz vítrea.

[0147] Un congelador flash puede ser empleado para secar la mezcla de líquido a través de la utilización de gas líquido, que puede ser nitrógeno, o CO₂, o propano, o cualquier gas refrigerante compresible adecuado.

[0148] El tamaño de las gotas puede variar entre aproximadamente 10 y aproximadamente 5000 micrómetros.

[0149] La distribución del tamaño de las gotitas depende de una variedad de parámetros tales como el tamaño de la boquilla del rociador congelador, la temperatura del gas líquido, temperatura de la cámara, relación de componentes de mezclado, relación de flujo de mezcla y de gas, concentración de material de encapsulado, tipo de plastificante o geometría de pared de cámara de congelación.

[0150] La distribución del tamaño de las gotas vídrias que resulta del proceso puede variar entre 50 micras y

1.000 micras.

5 **[0151]** Los resultados de este tratamiento en microgotas congeladas vídriosas, donde cada gota de micro contiene una prolactina protegida, un material de encapsulación de grado alimenticio o grado de la alimentación o de calidad farmacéutica y el disolvente de grado alimenticio o grado de pienso o de calidad farmacéutica.

[0152] Una vez que estas gotitas congeladas se colocan en temperaturas por encima de la temperatura de fusión de la mezcla, la mezcla líquida de la fase previa del proceso deberá ser reconstituida.

10 **[0153]** El procedimiento puede incluir además la congelación en seco de una combinación de prolactina y un material de encapsulación de grado alimenticio o grado de pienso o de calidad farmacéutica.

15 **[0154]** El secado por congelación puede llevarse a cabo en cualquiera de una mezcla líquida de prolactina y un material de encapsulación de grado alimenticio o grado de pienso o de calidad farmacéutica o en microgotas vídriosas congeladas como se describe anteriormente en este documento.

[0155] El resultado de este proceso de liofilización es material vítreo seco que incluye un material de encapsulación de grado alimenticio o grado de la alimentación o de calidad farmacéutica y la prolactina.

20 **[0156]** La liofilización puede realizarse de una mezcla líquida, el resultado del proceso de ser de material seco a granel, poroso por naturaleza, que contiene una matriz vítrea del material de encapsulación de calidad alimentaria seca o grado de la alimentación o de calidad farmacéutica que encapsula la prolactina.

25 **[0157]** La liofilización puede llevarse a cabo en la salida del proceso de congelación flash de pulverización, dando como resultado gotitas vídriosas, con el grado alimenticio o grado de la alimentación o material de encapsulación de grado farmacéutico que incorpora la prolactina.

30 **[0158]** El secado por pulverización a baja temperatura de combinación de prolactina y material de encapsulación de grado alimenticio o grado de la alimentación o de grado farmacéutico puede llevarse a cabo.

[0159] La prolactina puede dispersarse en material de encapsulación de grado de alimentos o grado de piensos o de grado farmacéutico y atomizada a una temperatura máxima de 45°C.

35 **[0160]** La temperatura máxima puede ser de 37°C, pre-desnaturalización de ventilación de la prolactina.

[0161] El secado por pulverización puede llevarse a cabo en una mezcla líquida de una prolactina protegida, un material de encapsulación de calidad alimentaria o de grado de piensos o de calidad farmacéutica y una chaperona como la protección de la proteína, resultando en material seco que comprende el material de encapsulación de grado de alimentos o de grado de piensos o de grado farmacéutico y la prolactina.

40 **[0162]** La deshidratación del material de encapsulación de calidad alimentaria o para piensos o de calidad farmacéutica y prolactina puede llevar a cabo a una temperatura, que es preferiblemente por debajo de la temperatura de desnaturalización de la prolactina.

45 **[0163]** La deshidratación del material de encapsulación de calidad alimentaria o para piensos o de calidad farmacéutica y la prolactina se puede llevar a cabo a una temperatura por debajo de la temperatura de inicio para el umbral de la desnaturalización de la prolactina o el umbral de degradación.

50 **[0164]** Preferiblemente, la deshidratación de las composiciones del material de encapsulación y variantes de la prolactina se lleva a cabo a una temperatura por debajo de la aparición más baja temperatura de dicho umbral de desnaturalización de variante o umbral de degradación.

55 **[0165]** El proceso de deshidratación de material de encapsulación de calidad alimentaria o de calidad alimentaria o farmacéutica y la prolactina puede llevarse a cabo a una temperatura máxima de 50°C.

[0166] La etapa de secado de la mezcla de líquido puede dar lugar a gotas liofilizadas vítreas que contenían prolactina y un material de encapsulación de grado alimenticio o grado de pienso o de calidad farmacéutica.

60 **[0167]** La etapa de liofilización puede estar precedida por una etapa de pulverización de la mezcla líquida a través de un atomizador en presencia de un gas líquido.

65 **[0168]** La extrusión puede ser utilizada como un método de encapsulación en el que un material de núcleo se dispersa en una masa líquida de prolactina y un material de encapsulación de grado alimenticio o grado de pienso o de grado farmacéutico y, finalmente, se forma en microcápsulas.

[0169] La encapsulación o incrustación de prolactina protegida en la formulación descrita anteriormente puede

implicar una etapa adicional de mezcla previa de la mezcla en un pequeño volumen de la formulación o la categoría alimenticia recién nacida o grado de alimentación o material de encapsulación de calidad farmacéutica o formulación sólida o semisólida, para asegurar la homogeneidad antes de su mezcla con la formulación total.

5 **[0170]** Procesos de protección adecuados para el uso como se usa en la presente memoria incluyen, pero no se limitan a aquellos que producen prolactina protegida en la forma de un: polvo, un polvo micro-encapsulado, un polvo de nano-encapsulado, un líquido, un líquido micro-emulsionado, un líquido nano-emulsionado, una solución, una solución micro-emulsionada, una solución nano-emulsionada, un diferencial, un puré, una pomada, micro gotitas, nano-gotas, tabletas y sólidos tales como, por ejemplo, gránulos.

10 **[0171]** El proceso de encapsulación puede incluir dúplex, W/O/W, O/W/O, emulsiones dobles o múltiples.

15 **[0172]** Una mezcla de prolactina y un material de encapsulación de grado alimenticio o grado de pienso o de calidad farmacéutica y un agente tensioactivo seleccionado del grupo de tensioactivos que tienen un valor de HLB sustancialmente por debajo de 7 puede ser suspendido en un material no miscible, de grado alimenticio o grado de pienso o grado farmacéutico y mezclado adicionalmente, que afecta a la reducción de tamaño utilizando los métodos anteriormente mencionados.

20 **[0173]** La emulsión molida puede además mezclarse con un material de grado alimenticio o grado de pienso o de calidad farmacéutica que es miscible con el material de encapsulación, y un grado de alimentos o grado de piensos o de grado farmacéutico de superficie seleccionada del grupo de los tensioactivos que tiene un valor HLB sustancialmente mayor que 7 y reducido aún más en tamaño utilizando uno de los métodos anteriormente mencionados.

25 **[0174]** Tras la formulación de una prolactina, microemulsión o nanoemulsión de la prolactina formulada puede llevarse a cabo.

30 **[0175]** La prolactina formulada puede ser mezclada con una emulsión de la incorporación de agua, fase aceite y tensioactivo. Como resultado de dicha mezcla, las moléculas de prolactina se reorganizan en la fase dispersa de la emulsión.

35 **[0176]** La protección proporcionada a la prolactina por la microemulsión o nanoemulsión pueden referirse a la protección de la exposición de la temperatura, y la mejora de la solubilidad de la prolactina en el alimento o pienso con el que está integrada, a raíz de la liberación de la prolactina de su encapsulación antes de su consumo y/o durante el proceso de digestión.

[0177] La prolactina en la nanoemulsión o microemulsión se protege inicialmente dentro de la microemulsión líquida o nanoemulsión líquida.

40 **[0178]** También se describe un método para la encapsulación de prolactina en un grado alimenticio o grado de pienso o matriz vítrea de calidad farmacéutica, comprendiendo el método; (i) mezclar una mezcla íntima homogénea entre una prolactina y una pared que forma material de encapsulación de calidad alimentaria o para piensos o de calidad farmacéutica creando una mezcla, (ii) mezclar dicha mezcla con un plastificante adecuado, (iii) retirar dicho plastificante rápidamente mientras que inhibe la cristalización del material formador de pared de ese modo resultan en la encapsulación de la prolactina en un grado de grado alimento o pienso o matriz vítrea de calidad farmacéutica.

45 **[0179]** También se describe un método para la encapsulación de una prolactina, que comprende; (i) mezclar una prolactina con un material de pared de formación de material de encapsulación de grado alimenticio o grado de pienso o de grado farmacéutico, y (ii) enfriar rápidamente material fundido, que forma una pared resultando con ello en la encapsulación de la prolactina en una matriz vítrea de grado de alimento o piensos o de grado farmacéutico.

50 **[0180]** "Matriz de estado vítreo" se refiere a un sólido amorfo metaestable, en el que la eliminación rápida de un plastificante provoca el aumento de la viscosidad del biopolímero hasta el punto donde la movilidad de traslación de la longitud de segmento de polímero crítico es detenido y la alineación corresponde al coeficiente de dilatación adiabática inherente del polímero se discontinúa.

55 **[0181]** Materiales hidrófilos tanto de una naturaleza monómera como de naturaleza polimérica existen o bien como o se pueden convertir en estados amorfos que presentan las características de transición de vidrio/caucho de macromoléculas amorfas. Estos materiales tienen temperaturas de transición bien definidas vítreas Tg que pueden depender del peso molecular o en la complejidad molecular de la fabricación de vidrio de sustancias. Tg es presionado por la adición de diluyentes. El agua es el plastificante universal para todos estos materiales hidrofílicos. Por lo tanto, la temperatura de transición de vidrio/caucho puede ser ajustable mediante la adición de agua o una solución acuosa, o, alternativamente, por la eliminación de agua o una solución acuosa.

60 **[0182]** El plastificante puede ser cualquier sustancia de peso molecular más bajo que el del polímero biocompatible que crea un aumento en el volumen intersticial libre. El plastificante puede ser un compuesto orgánico, que es de

triglicéridos de longitud de cadena variable, o agua.

[0183] También se describe un método para encapsular y incrustar la prolactina en la formulación de recién nacidos, comprendiendo el método; (i) la prolactina de mezcla con un material de encapsulación de grado de alimento líquido o grado de pienso o de calidad farmacéutica para formar una mezcla líquida, (ii) secado de la mezcla de líquido a fin de formar una mezcla seca; (iii) el revestimiento de la mezcla seca con una capa adicional compuesta de material de encapsulación de calidad alimentaria o de calidad de pienso o de calidad farmacéutica, donde cada una de dichas capas tiene diferentes propiedades relativas a las condiciones ambientales en relación de durabilidad y degradación, y (iv) la adición de la mezcla seca a la formulación de recién nacidos, siendo de este modo un método para encapsular e incrustar una prolactina en formulaciones de recién nacidos.

[0184] Una formulación de recién nacidos se da a conocer que comprende una prolactina que se encapsula o incrusta en un material de encapsulación de grado alimenticio o grado de pienso o de calidad farmacéutica.

[0185] También se describe un método para encapsular o incrustar una prolactina en la formulación del alimento de recién nacidos sólido o semi sólido o bebida de recién nacidos, que comprende las etapas de; (i) mezclar la prolactina con un material de encapsulación de grado de alimento líquido o grado de pienso o de calidad farmacéutica a fin de formar una mezcla líquida, (ii) secado de la mezcla de líquido a fin de formar una mezcla seca, (iii) el revestimiento de la mezcla seca con una capa adicional compuesta de una calidad alimentaria o piensos o material de encapsulación de grado farmacéutico, donde cada una de dichas capas tenga diferente durabilidad y propiedades de degradación relacionadas con las condiciones ambientales, y (iv) añadir la mezcla seca a la formulación de alimento sólido o semi sólido de recién nacidos de bebida de recién nacidos, siendo de este modo un método para encapsular e incrustar la prolactina en la formulación de pienso de animales sólido o semi sólido de recién nacidos o bebida recién nacido.

[0186] También se describe una formulación de pienso de animales de recién nacidos sólido o semi-sólido o bebida de recién nacidos, que comprende una prolactina que se encapsula o incrusta en un material de grado alimenticio o grado de pienso o grado de calidad farmacéutica.

[0187] Los siguientes ejemplos se presentan con el fin de ilustrar más completamente alguna forma de realización de la invención. No deben de ninguna manera interpretarse, sin embargo, como limitantes del alcance de la invención.

EJEMPLO 1 - Especificaciones de proceso de revestimiento de lecho fluidizado

Muestras de revestimiento

[0188]

PMDP - Policosa® (núcleo) + [MD (maltodextrina) + prolactina] (solución de recubrimiento) - → (una concentración - 2 UI/gr)
 [LMPD - Lactosa (núcleo) + [MD + prolactina] (solución de recubrimiento) -> (una concentración - 2 UI/gr)
 MMDP - Maltodextrina (núcleo) + [MD + prolactina] (solución de revestimiento) -> (una concentración -2 UI/gr; MD 18 concentraciones de 10%, 20%, 30% MD 18 + Vitamina C 10% (una concentración en cada núcleo y el recubrimiento MD 18)

Condiciones de revestimiento

[0189] La mezcla se realiza en condiciones de regulación de calidad alimentaria y con el cumplimiento de procedimientos de sistema de calidad Biodar ISO9001:2000. Durante todo el proceso de fabricación, la temperatura del producto no excede de 37°C. El proceso se realiza a una velocidad lenta para evitar la aglomeración.

Muestreo

[0190] A partir de cada etapa del proceso se toma una muestra de 10 gramos, envasado en una bolsa y se etiqueta para indicar el número de la muestra.

EJEMPLO 2 - Preparación de premezclado de la solución de prolactina

Condiciones de mezcla

[0191] La mezcla se hace bajo condiciones de cGMP y con el cumplimiento de los procedimientos HACCP

Preparación de la solución

[0192] Una solución Maltodextrina DE-18, la prolactina y la solución salina 0,45% se prepara usando 20% de

maltodextrina DE-18, prolactina (100 IU/ml) en una proporción de 10cc a 500gr de núcleo recubierto de ingrediente activo (núcleo recubierto de MD/Policosa con MD + capa de prolactina). Se añade solución salina 0,45% para completarse a una solución 100%. Se agrega solución salina en parte a la solución. El resto de la solución salina se usa para enjuagar las botellas de prolactina para asegurarse que todo el material se haya lavado y se añade a la solución. [La solución se mezcla hasta que la maltodextrina se disuelva completamente.

EJEMPLO 3 - Las pruebas in vitro

[0193] Varios ensayos in vitro se realizan sobre el producto de prolactina con el fin de verificar que el proceso de fabricación no afecta negativamente a las características requeridas para un producto y bioactividad, y aún más para asegurarse de que cumple constantemente con sus especificaciones técnicas.

Pruebas de osmolaridad

[0194] La prueba de osmolaridad debe indicar que la adición de polvo de microcápsulas de prolactina a la fórmula RTF no tiene ningún efecto apreciable sobre la osmolaridad de solución final, por tanto, la fórmula se queda dentro de sus especificaciones. La fórmula líquida RTF (Ready-To-Feed) tiene una osmolaridad definida que es importante para el consumo de nutrientes adecuados. Por lo tanto, se realiza una prueba para verificar que la adición de polvo de prolactina microcápsula a la RTF no cambia la osmolaridad de la fórmula líquida. La prueba se realiza mediante la inmersión de 1,0 g a 1,5 g de polvo de microcápsulas de prolactina en 60 ml de biberón de fórmula de RTF prematura, analizando la osmolaridad y comparándola con un control que contiene la misma fórmula RTF sin prolactina. Cada muestra se analiza por triplicado.

Estabilidad del producto en preparados líquidos para lactantes a lo largo del tiempo

[0195] El polvo de microcápsulas de prolactina está destinado a ser consumido inmediatamente después de la solubilización en la fórmula infantil. Sin embargo, la estabilidad de la prolactina en el tiempo se mide mediante la adición de una cantidad predefinida de prolactina líquida (concentración de 100µU por alícuota) a 60 ml fórmula Materna™ de recién nacidos prematuros en un biberón, y la cantidad de prolactina se analiza inmediatamente después de la adición, a continuación, después de 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21 y 24 horas usando el kit de Elisa. Además, con el fin de evaluar la homogeneidad del producto final, en cada intervalo de tiempo, el muestreo se toma en las capas superior, media e inferior del biberón RTF muestreado, así como después de la agitación de fórmula líquida.

Estabilidad del polvo de microcápsulas de prolactina a temperaturas extremas

[0196] Dado que la prolactina es una proteína sensible a la temperatura, la capacidad del producto para proteger el componente de prolactina después de la exposición del polvo encapsulado a alta temperatura para varias duraciones, se mide.

[0197] Debe quedar claro que la descripción de las realizaciones y las figuras adjuntas establecidas en esta especificación solo sirve para una mejor comprensión de la invención, sin limitar su alcance como se detalla en las reivindicaciones siguientes.

Reivindicaciones

- 5 **1.** Uso de prolactina para la fabricación de una composición nutricional para mejorar el crecimiento del intestino delgado, la maduración funcional del intestino delgado y/o la absorción de calcio a través de membranas epiteliales intestinales que mejoran la maduración del intestino, y/o estimulan la mitosis en los linfocitos T, comprendiendo la composición de prolactina idéntica o similar o análoga a la prolactina encontrada en una fuente de alimento natural microencapsulado en al menos una capa de protección, donde la liberación de dicha prolactina de la capa de protección en dicho sujeto es el resultado de un desencadenante ambiental.
- 10 **2.** El uso de la reivindicación 1, en el que la fuente de alimento natural se selecciona del grupo que consiste en la leche natural no procesada, los huevos naturales no procesados, el tejido animal, el calostro y suero, o/preferiblemente en el que la prolactina comprende al menos una variante de prolactina, siendo cada variante un análogo de una prolactina de origen natural o un derivado funcional de los mismos; o/preferiblemente, en el que el sujeto es un mamífero, preferiblemente en el que el mamífero es un ser humano, o
- 15 específicamente formulado para dicho sujeto.
- 3.** El uso de la reivindicación 2, en el que el sujeto es un mamífero y al menos la variante en la composición que es homóloga a una variante del mamífero.
- 20 **4.** El uso de la reivindicación 3, en el que todas las variantes en la composición son homólogas a una variante en el mamífero; o en el que al menos la variante en la composición es idéntica a una variante en el mamífero, preferiblemente en el que todas las variantes en la composición son idénticas a una variante en el mamífero.
- 25 **5.** El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 3 ó 4, en el que el mamífero es un humano, preferiblemente en el que el ser humano se selecciona del grupo consistente de un recién nacido, un bebé humano prematuro, un bebé humano a término, un bebé, un infante, un adolescente, un adulto y un anciano.
- 30 **6.** El uso de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la prolactina comprende una forma de 23 kDa.
- 7.** El uso de cualquiera de las reivindicaciones 2 a 6, en el que la prolactina comprende al menos una variante de prolactina, siendo un análogo de una prolactina de ocurrencia natural o un derivado funcional del mismo, en el al menos la variante se selecciona de cada variante del grupo que consiste de la prolactina no glicosilada, la prolactina no fosforilada, monómero de prolactina y cualquier combinación de los mismos.
- 35 **8.** El uso de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la composición comprende al menos un complejo entre la prolactina y al menos una capa protectora, preferiblemente en el que la composición comprende además uno o más polímero soluble en agua seleccionado del grupo polietilenglicol, copolímeros de polietilenglicol y polipropilenglicol, carboximetilcelulosa, dextrano, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona y poliprolina, para la formación de complejos entre la prolactina y al menos una capa protectora a través de la unión covalente de los polímeros solubles en agua tanto a la prolactina como a la capa protectora; preferiblemente
- 40 en el que la capa de protección está diseñada específicamente para degradarse como respuesta al gatillo del entorno, en el que dicho disparador ambiental es un cambio en al menos uno de temperatura, contenido de humedad, presión, pH, fuerza iónica, actividad enzimática, tiempo transcurrido desde la proporción al sujeto con la composición nutricional, o cualquier combinación de los mismos, preferiblemente en el que la capa protectora se selecciona del grupo que consiste en polisacáridos, maltodextrina, leche en polvo, proteína de suero, lípidos, goma, celulosas, lactosa amorfa, o combinaciones de los mismos .
- 50 **9.** El uso de prolactina para la fabricación de un alimento nutricional suplementado o pienso o bebida para potenciar el crecimiento del intestino delgado, maduración funcional del intestino delgado y/o la absorción de calcio a través de membranas epiteliales intestinales que mejoran la maduración intestinal, y/o estimular mitosis en los linfocitos T, comprendiendo comida nutricional suplementada alimento nutricional y una composición de la prolactina, comprendiendo la composición prolactina idéntica o similar o análoga a la prolactina que se encuentra en una fuente de alimento natural microencapsulado en al menos una capa de protección, donde la liberación de dicha prolactina de al menos una capa de protección en dicho sujeto es el resultado de un desencadenante ambiental.
- 55 **10.** El uso de la reivindicación 9, en el que la fabricación comprende la adición de la composición de la prolactina a la alimentación humana o animal o bebida nutricionales; o/preferiblemente en el que la fabricación comprende:
- 60 a. preparar una mezcla de prolactina protegida que comprende dicha prolactina con un primer material de
- 65 protección adecuado que forma una primera mezcla;

- b. procesar la primera mezcla para formar una segunda mezcla seca que comprende prolactina en al menos una capa protectora, en la que dicha capa de protección está diseñada específicamente para degradarse como una respuesta a cambios en un desencadenante ambiental; y
- c. añadir la segunda mezcla seca a dicho alimento nutricional o alimento nutritivo o bebida, preferiblemente en el que la preparación de una prolactina protegida comprende además:
- 5 a. formar un núcleo redondo de la segunda mezcla;
- b. secar el núcleo;
- c. recoger el núcleo deshidratado;
- 10 d. hacer una primera suspensión, que comprende el núcleo deshidratado en un segundo material protector líquido;
- e. secar la primera suspensión en un secador de lecho fluidizado;
- f. recoger la suspensión de lecho fluidizada;
- g. hacer una segunda suspensión, que comprende la suspensión seca que se recoge en un tercer material protector líquido;
- 15 h. secar la segunda suspensión en un secador de lecho fluidizado.
- 11.** El uso de la reivindicación 10, en el que la primera mezcla es líquida; o
- 20 en el que la primera suspensión comprende además al menos una de una maltodextrina, una vitamina, un antioxidante, un inhibidor de la proteasa, una hormona de crecimiento, un FCE (factor de crecimiento epidérmico), una insulina y la insulina como factor de crecimiento, una similar a la insulina proteína de factor de crecimiento de unión, una inmunoglobulina, un polipéptido rico en prolina, una lactoferrina, una proteasa, una lactoalbúmina, una interleucina, una lisozima, un FCTA (factor de crecimiento transformante α), un FCDP (factor de crecimiento derivado de las plaquetas) o una combinación de los mismos; o
- 25 en el que la segunda suspensión comprende además al menos una de una maltodextrina, una vitamina, un antioxidante, un inhibidor de la proteasa, una hormona de crecimiento, un FCE (factor de crecimiento epidérmico), una insulina y la insulina como factor de crecimiento, una insulina de tipo proteína de factor de crecimiento vinculante, una inmunoglobulina, un polipéptido rico en prolina, una lactoferrina, una proteasa, una lactoalbúmina, una interleucina, una lisozima, un FCTA (factor de crecimiento transformante α), un FCDP (factor de crecimiento derivado de plaquetas) o una combinación de los mismos.
- 30 **12.** El uso de la reivindicación 11, en el que la maltodextrina tiene un equivalente de dextrosa (DE) entre 2 y 64, preferiblemente en el que el equivalente de dextrosa es 18.
- 35 **13.** El uso de cualquiera de las reivindicaciones 9 a 12, en el que la prolactina se derivatiza ex vivo, preferiblemente en el que la derivatización se lleva a cabo por al menos una de la digestión enzimática, los métodos físicos, métodos químicos, o cualquier combinación de los mismos; o/preferiblemente que comprende además una etapa de aglomeración, preferiblemente en el que la etapa de aglomeración resulta en diámetro medio de partícula entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 5000 micrómetros.
- 40 **14.** El uso de la reivindicación 10, en el que la preparación de una prolactina protegida comprende además:
- 45 a. formar un núcleo redondo de la segunda mezcla;
- b. secar el núcleo;
- c. recoger el núcleo deshidratado;
- d. hacer una primera suspensión, que comprende el núcleo deshidratado en un segundo material de protección líquido;
- 50 e. secar la primera suspensión en un secador de lecho fluidizado;
- f. recoger la suspensión secado a lecho fluidizado;
- g. hacer una segunda suspensión, que comprende la suspensión seca recogida en un tercer material protector líquido; y
- h. secar la segunda suspensión en un secador de lecho fluidizado.
- 55 y en el que el núcleo es inerte; o en el que la formación del núcleo redondo comprende además:
- 60 a. la congelación flash de dicha mezcla líquida;
- b. recoger las gotitas producidas;
- c. liofilizar las gotitas recogidas; y
- d. recoger las gotas liofilizadas, creando de este modo un núcleo redondo; o
- 65 en el que el núcleo comprende la prolactina; o en el que el tercer material de protección está diseñado para proteger térmicamente la prolactina durante al menos 2

minutos a una temperatura de no menos de 95°C; o
en el que el segundo material protector está diseñado para proteger dicha prolactina de enzimas proteolíticas y pH
de no más de 4,75.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65